



⑮ **BUNDESREPUBLIK
DEUTSCHLAND**



**DEUTSCHES
PATENT- UND
MARKENAMT**

⑫ **Patentschrift**
⑩ **DE 198 16 102 C 1**

⑤① Int. Cl.⁶:
C 12 N 7/06
A 61 L 2/16
C 07 K 16/00

⑲ Aktenzeichen: 198 16 102.6-41
⑳ Anmeldetag: 10. 4. 98
㉑ Offenlegungstag: -
㉒ Veröffentlichungstag
der Patenterteilung: 16. 9. 99

Innerhalb von 3 Monaten nach Veröffentlichung der Erteilung kann Einspruch erhoben werden

⑦③ Patentinhaber:
Gottardi, Waldemar, Prof. Dr., Innsbruck, AT

⑦④ Vertreter:
Säger und Kollegen, 61184 Karben

⑦② Erfinder:
gleich Patentinhaber

⑤⑥ Für die Beurteilung der Patentfähigkeit in Betracht
gezogene Druckschriften:
Antiviral Research 38, S.25-30, 1998;
J. of Ocular Pharmacology and Therapeutics Vol.14,
No.5, 1998, S.283-290;

⑤④ Verfahren zum Inaktivieren von Viren in Proteinlösungen, Verwendung von N-Chlortaurin in dem Verfahren
sowie nach dem Verfahren hergestellte Proteinlösungen

⑤⑦ In einem Verfahren zum Inaktivieren von Viren in Proteinlösungen durch Behandeln der Proteinlösung mit viruciden Stoffen wird N-Chlortaurin oder ein Derivat des N-Chlortaurins als virucider Stoff eingesetzt.

DE 198 16 102 C 1

DE 198 16 102 C 1

Beschreibung

Die vorliegende Erfindung betrifft ein Verfahren zum Inaktivieren von Viren in Proteinlösungen, wie beispielsweise Plasmaderivate, z. B. Immunglobuline, Albumine, Fibrinogene, Gewebekulturseren sowie die Verwendung von N-Chlortaurin in dem Verfahren sowie nach dem Verfahren hergestellte Proteinlösungen, insbesondere der oben erwähnten Art.

Es ist bekannt, daß N-Chlortaurin eine bakterizide Wirkung hat (Hyg. Med. 18, 303-326, 1992). Da N-Chlortaurin ein äußerst schwaches Oxidationsmittel ist, war eine virucide Wirkung nicht zu erwarten.

Es wurde überraschenderweise gefunden, daß N-Chlortaurin eine ausgeprägte virucide Wirkung entfaltet, wenn es zum Inaktivieren von Viren in Proteinlösungen, wie Immunglobulinen verwendet wird. Dies ist für die Aufbereitung solcher Proteinlösungen von großer Bedeutung, da insbesondere Gammaglobuline aufgrund ihrer Gewinnung aus Blutplasma, speziell aus Humanblutplasma, Viren enthalten können.

Aufgabe der vorliegenden Erfindung ist demgemäß die Schaffung eines Verfahrens zum Inaktivieren von Viren in solchen Proteinlösungen bzw. die Verwendung von N-Chlortaurin in solchen Verfahren sowie die Bereitstellung von Virus-inaktivierten Proteinlösungen, insbesondere von Virus-inaktivierten Immunglobulinen.

Gelöst wird diese Aufgabe durch ein Verfahren bzw. eine Verwendung des N-Chlortaurins gemäß dem Verfahrens- bzw. Verwendungshauptanspruch.

Die virucide Wirkung des N-Chlortaurins erstreckt sich auf alle bisher untersuchten Viren, beispielsweise Hepatitis, Parvoviren, Adenoviren und auch auf Retroviren, wie Herpes simplex Virus oder HIV.

Die virucide Wirkung kann beispielsweise durch den sogenannten Viralen Reduktionsfaktor definiert werden, der durch die Formel

$$RF = \log(PFU)_{\text{control}} - \log(PFU)_{\text{NCT}}$$

angegeben werden kann, worin PFU (plaque forming units) durch Auszählen von durch N-Chlortaurin bewirkten Differenzen von Plaques auf Kulturen ermittelt wird (Crumpacker et al, Antimicrob. Agents Chemother. 15, 642-645, 1979).

Bei der Behandlung von virushaltigen Proteinlösungen mit einem Gehalt von 0,1 bzw. 1% N-Chlortaurin können bei Inkubationszeiten von 5 bis 60 min Reduktionsfaktoren in in der Größenordnung von etwa 0,5 bis 4,5 \log_{10} erreicht werden.

Das N-Chlortaurin kann zur Behandlung der Proteinlösungen mit diesen beispielsweise durch einfaches Einmischen zur Einwirkung gebracht werden. Die Behandlung kann aber auch auf andere Weise erfolgen, wie beispielsweise durch Überleiten der Proteinlösung über N-Chlortaurin, das an einen Träger gebunden ist. Als Träger können absorbierende Stoffe verwendet werden, so z. B. organische oder anorganische Matrixsubstanzen, wie Dextranale.

Das N-Chlortaurin kann in Form seiner Derivate eingesetzt werden, beispielsweise in Form seiner Salze. Vorzugsweise werden die Alkalisalze des N-Chlortaurins eingesetzt, insbesondere das leicht zugängliche Na-Salz.

Beim Vermischen des N-Chlortaurins mit Proteinlösungen werden im allgemeinen N-Chlortaurinlösungen mit einer Konzentration von mindestens etwa 0,01 Gew.-% eingesetzt. Unterhalb dieser genannten Konzentration ist die virucide Wirkung im allgemeinen so schwach, daß unangemessen lange Inkubationszeiten erforderlich sind. Bei höheren

Konzentrationen als 0,01 Gew.-% ist eine verstärkte konzentrationsabhängige virucide Wirkung festzustellen, sodaß der Einsatz von Konzentrationen von mehr als 5 Gew.-% im allgemeinen aus wirtschaftlichen Gründen nicht sinnvoll ist.

Beim Einsatz von trägergebundenem N-Chlortaurin müssen die Konzentrationsverhältnisse am Träger so ausgewählt werden, daß die genannten Konzentrationen in der Lösung erreicht werden.

Es hat sich gezeigt, daß N-Chlortaurin(derivate) bei allen bisher geprüften Viren eine gute virucide Wirkung entfaltet, die sich auch auf Mikroorganismen, wie beispielsweise vom Typ der Viroide oder Prionen, erstreckt. Das Merkmal "virucide Wirkung" soll daher in diesem Zusammenhang auch eine Wirkung auf diese genannten Mikroorganismen bedeuten.

Beispiel

Ein Immunglobulin-G mit einem HSV-1-Virengehalt von 10^8 bis 10^9 PFU/ml wird mit 0,1 bzw. 1% N-Chlortaurin vermischt und bei Raumtemperatur jeweils 5, 15, 20, 30, 45 und 60 min inkubiert. Eine Bestimmung der PFU-Werte ergab in Abhängigkeit von den Inkubationszeiten und N-Chlortaurin-Konzentrationen Reduktionsfaktoren von 0,9 bis 4,1.

Patentansprüche

1. Verfahren zum Inaktivieren von Viren in Proteinlösungen durch Behandeln der Proteinlösung mit viruciden Stoffen, **dadurch gekennzeichnet**, daß als virucider Stoff N-Chlortaurin oder ein Derivat des N-Chlortaurins eingesetzt wird.
2. Verfahren nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß ein Salz des N-Chlortaurins eingesetzt wird.
3. Verfahren nach Anspruch 2, dadurch gekennzeichnet, daß das Na-Salz des N-Chlortaurins eingesetzt wird.
4. Verfahren nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß Immunglobuline behandelt werden.
5. Verfahren nach einem der vorigen Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, daß die Behandlung durch Einmischen des N-Chlortaurin(derivats) in die Proteinlösung oder durch Überleiten der Proteinlösung über an einen Träger gebundenes N-Chlortaurin(derivat) erfolgt.
6. Verwendung von N-Chlortaurin zur Inaktivierung von Viren in Proteinlösungen.
7. Verwendung nach Anspruch 6, dadurch gekennzeichnet, daß ein Salz des N-Chlortaurins eingesetzt wird.
8. Verwendung nach Anspruch 7, dadurch gekennzeichnet, daß das Na-Salz des N-Chlortaurins eingesetzt wird.
9. Verwendung nach den Ansprüchen zur Inaktivierung von Viren in Immunglobulinen.
10. Virus-inaktivierte Proteinlösungen, hergestellt nach dem Verfahren der Ansprüche 1 bis 5.
11. Proteinlösung nach Anspruch 10, dadurch gekennzeichnet, daß als Proteinlösung Immunglobuline eingesetzt werden.